2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

学　校　名	**東　　邦　　大　　学**	研究所名等	
研 究 課 題	新規性差マーカーを用いた性差ニューロンの機能解剖学的研究	研 究 分 野	医　　学
キーワード	①視床下部　②ニューロン　③性的二型　④本能行動　⑤光遺伝学　⑥単一シナプスラベル　⑦薬理遺伝学		

〇研究代表者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
船　戸　弘　正	東 邦 大 学 医 学 部	教　　授	研究統括とデータ解析

〇研究分担者

氏　　名	所　　属	職　　名	役　割　分　担
恒　岡　洋　右	東 邦 大 学 医 学 部	准　教　授	形態学的および生理学的研究遂行
吉　田　さ　ち　ね	東 邦 大 学 医 学 部	講　　師	動物実験計画策定と実施

新規性差マーカーを用いた性差ニューロンの機能解剖学的研究

1. 研究の目的

人口の高齢化や社会の高度情報化を背景に、アルツハイマー病に代表される神経変性疾患患者や、うつ病に代表される精神科疾患患者が増加している。これらの疾患の発症には明瞭な性差が存在することが知られており、その基盤として脳の構造や機能における性差の存在が指摘されている。このような脳の構造的・機能的性差がどのように形成され、生理的機能や疾患感受性にどのように寄与するのかを明らかにすることは、生物学的にも医学的にも極めて重要な課題である。

古典的な染色による研究から、視床下部や扁桃体などの脳領域において、サイズやニューロン数に雌雄差が存在することが報告されてきた。しかしながら、これらの構造的性差がどのような機能的意義を持つのかについては、十分に解明されてこなかった。その主な理由は、性差を示すニューロン集団を特異的に標識・操作するための分子マーカーが存在しなかったことにある。近年では、薬理遺伝学的手法やカルシウムイメージング、さらには順行性、逆行性トレーサーを用いた神経回路解析が発展しているが、これらはいずれも標的ニューロン特異的な遺伝子発現系、特に Cre-loxP システムに依存している。

このような背景のもと、我々は視床下部視索前野、分界条床核、腹内側扁桃核において明瞭な性差を示すニューロンに特異的に発現する Moxd1 を同定した。さらに Moxd1 遺伝子座に DNA 組み換え酵素 Cre を導入した Moxd1-Cre マウスを作製し、性差ニューロン特異的な遺伝子操作が可能であることを実証した。このモデルにより、これまで困難であった性差ニューロンの機能解析が可能となった。

本研究の目的は、我々が独自に同定・作製した性差ニューロン特異的 Cre マウスを用いた機能解剖学的解析により、脳の構造的性差が機能的性差や性行動を含む性特異的行動の制御にどのように関与するかを解明することである。さらに、Moxd1 と同様に性差関連行動を担う他のニューロン集団についても検討するとともに、発達期の環境要因が睡眠などの行動に及ぼす影響について解析を行う。これらを通じて、性行動および養育行動を含む性差のある行動とその神経基盤に関する理解を深化させることを目標とする。

2. 研究の計画

視床下部腹内側核、分界条床核、腹内側扁桃核に分布する性差ニューロン（Moxd1発現ニューロン）の機能的役割を明らかにするため、Moxd1-Creマウスに対してアデノ随伴ウイルスを各標的領域へ局所投与した。ウイルスにはCre依存的に発現するDIO-ChR2またはDIO-ArchTを組み込み、Moxd1陽性細胞に選択的に光応答性分子を発現させた。光ファイバーおよび高輝度LED（Cree社）を用いた光刺激により、ChR2発現細胞では神経活動の促進、ArchT発現細胞では神経活動の抑制を誘導した。これにより、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動への影響を評価した。さらに、短時間刺激による即時的な行動変化に加え、約1時間の断続的刺激を実施することで、行動動機づけに対する累積的影響を検討した。睡眠覚醒状態については脳波および筋電図を用いて判定した。

光遺伝学的操作は高い時間分解能を有する一方で、行動の多くは数時間単位で変化し、睡眠覚醒のような恒常性制御を受ける行動の評価には長時間の観察が必要であった。このため、性差ニューロンに対する薬理遺伝学的手法を併用し、時間スケールの異なる行動制御機構を検討した。具体的には、DIO-hM3DqまたはDIO-hM4Diを発現させたアデノ随伴ウイルスを同様の脳領域に投与し、CNOまたはDCZの腹腔内投与により神経活動の活性化または抑制を行った。これにより、性行動、養育行動、攻撃行動、営巣行動に加え、社会行動への影響も含めて評価した。

これらの光遺伝学的操作および薬理遺伝学的操作の結果を統合することで、秒単位から時間単位に至る複数の時間スケールにおいて、性差ニューロンが行動制御に果たす役割を包括的に解析した。

内側視索前野に存在するPenk陽性ニューロンに着目し、性行動における動機づけ状態の維持およびマウントから挿入行動への遷移制御機構を解析する。特に、これらのニューロンが腹側被蓋野や中脳水道灰白質への投射を介して性行動の進行を調節する回路基盤を検討した。

発達期の環境要因の影響を検討するため、母子接触の有無が背部刺激による睡眠誘導やストレス応答に及ぼす影響を解析する。特に、母子接触の欠如により視床下部におけるカルシウムチャネル遺伝子Cacna1b発現が変化し、背部刺激による鎮静・睡眠誘導機構が修飾される可能性について検討した。

3. 研究の成果

（1）性差ニューロンの薬理遺伝学的操作

内側視索前野の Moxd1 陽性細胞の神経活動を亢進させた結果、オスマウスの性行動は著明に抑制された。一方、メスマウスに対する接近や嗅覚探索行動、求愛発声には変化は認められず、オスマウスに対する攻撃行動にも影響は見られなかった。これに対し、内側視索前野の Penk 陽性細胞の神経活動を亢進させると、オスマウスの性行動は顕著に促進された。嗅覚探索行動および求愛発声には変化がなかったものの、マウントおよび挿入行動の潜時は短縮し、回数は増加した。また、マウントから挿入行動への移行時間も短縮した。一方、攻撃行動には変化は認められなかった。さらに、Penk 陽性細胞の神経活動を抑制した場合には、これらと逆の結果が得られ、マウントおよび挿入行動の回数は減少し、潜時は延長したが、嗅覚探索行動および求愛発声には影響は見られなかった。これらの結果から、Penk 陽性ニューロンは性行動の開始そのものではなく、マウントから挿入行動への遷移および射精に至る一連の行動進行を支える持続的な動機づけ状態の制御に関与することが示唆された。

（2）性差ニューロンの光遺伝学的操作による行動変容

内側視索前野の Penk 陽性ニューロンを光遺伝学的に活性化したところ、光刺激に対する即時的な行動変化は認められなかった。しかし、光刺激を実施した条件では、マウント行動の開始から挿入行動への移行時間が短縮した。特に、行動試験前にあらかじめ光刺激を行った場合には、マウントおよび挿入行動の潜時が短縮し、行動回数の増加が認められた。さらに、Penk ニューロンの投射先特異的な操作を行った結果、腹側被蓋野への軸索末端刺激ではマウント行動の潜時短縮および回数増加が認められたが、挿入行動への影響は限定的であり、マウントから挿入への移行時間の短縮は認められなかった。一方、中脳水道灰白質への投射刺激では、マウントおよび挿入行動の潜時短縮と回数増加に加え、両者の移行時間の短縮も認められた。

（3）母子接触と睡眠・ストレス制御機構

背部刺激は仔マウスにおいて、運動量および心拍数の低下と徐波活動の増加を伴う睡眠様状態を誘導し、ストレスホルモンの上昇を抑制することが明らかとなった。一方、母子接触を欠いた人工飼育個体ではこれらの効果は消失した。さらに、視床下部におけるカルシウムチャネル遺伝子 Cacna1b の発現低下およびそのノックダウンにより、背部刺激による鎮静および睡眠誘導効果が消失したことから、発達期の母子接触が感覚刺激に対する睡眠・ストレス応答機構の形成に重要であることが示された。

4. 研究の反省・考察

本研究は概ね計画通りに遂行され、性差を示す Moxd1 陽性細胞をはじめとする内側視索前野の多様なニューロン群が、本能行動、特に性行動や攻撃行動の制御において異なる役割を担うことを明らかにする上で一定の進展が得られた。とりわけ、分子マーカーに基づくニューロン集団の機能分化や、行動の異なる段階に対応した神経基盤の存在が示唆された点は重要な成果である。一方で、これらのニューロン群が形成する神経回路の全体像や、各サブタイプ間の相互作用については未解明な点も多く残されている。また、性行動における動機づけ状態や行動遷移を支える神経活動の時間的ダイナミクスについても、さらなる詳細な解析が必要である。今後は、回路特異的操作や活動記録手法を組み合わせることで、性差ニューロンの機能的連関および行動制御メカニズムの統合的理解を進めるとともに、発達期の環境要因がこれらの神経回路に及ぼす影響についても検討を深めていきたい。

5. 研究発表

(1)学会誌等

①Sachine Yoshida, Akiko Harauma, Toru Moriguchi, Yousuke Tsuneoka, Kimiya Narikiyo, Kazuya Miyanishi, Makoto Kashima, Makoto Wada, Yu Hayashi, Hiromasa Funato. Early-life maternal care is required for the typical development of calming responses to back stroking. *Communications Biology*, in press

②Nozomu Yoshioka, Masayuki Kurose, Kazuki Tainaka, Takako Ichiki, Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato, Masaki Ueno, Hayato Ohshima, Ikuo Kageyama, Hirohide Takebayashi. Disruption of afferent neural circuits leads to arrhythmia in the animal model of hereditary sensory and autonomic neuropathy 6. *Frontiers in Neural Circuits* in press

③Fumiya Fukumori, Yoshiki Maeda, Kanemasa Maki, Toshiki Takenouchi, Kenjiro Kosaki, Hiromasa Funato, Eiji Kondo, Tomoaki Ikeda. Fetal rapid eye movement sleep dysfunction as a potential early indicator for NALCN-Related CLIFAHDD Syndrome: a case report. *Prenatal Diagnosis* 46(3):448-450, 2026

④Birkan Girgin, Fumito Naganuma, Kyosuke Hirano, Motoki Fujiya, Toshimasa Mimura, Ren Ebina, Ruoyu Zhu, Ayaka Nishibe, Tadaho Nakamura, Vetrivelan Ramalingam, Chika Miyoshi, Takatoshi Mochizuki, Hiromasa Funato, Masahiko Watanabe, Masashi Yanagisawa, Takeo Yoshikawa. Histamine N-methyltransferase inhibition as a novel therapeutic strategy for idiopathic hypersomnia. *European Journal of Pharmacology* 1011: 178475, 2026

⑤Natsuki Tagawa, Yousuke Tsuneoka, Hiromasa Funato. Nest-Building Behavior in Laboratory Mice: Multifunctional Roles and Neural Mechanisms. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 178, 106377, 2025

⑥Shinya Nakata, Tomoyuki Fujiyama, Fuyuki Asano, Haruna Komiya, Noriko Hotta-Hirashima, Motoki Juichi, Daiki Komine, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Chika Miyoshi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa. Partial activation of SIK3 delays the onset of wakefulness and alleviates hypersomnia due to the lack of protein kinase A-phosphorylation site. *SLEEP* 48 zsae279, 1-14, 2025

(2)口頭発表

①Sachine Yoshida, Hiromasa Funato. Sensing parent-infant physical contact for the understanding and support of development. 第103回　生理学会 東京（東京医大）

②船戸弘正. 食欲と睡眠の中枢制御ネットワーク. 第40回日本女性医学会学術集会　教育講演　東京

③Hiromasa Funato. Uncovering REM sleep regulation through NALCN. 2nd NALCN meeting, San Antonio

④Hiromasa Funato. Sodium leak channel uncovers the molecular mechanism regulating REMS and the function of REM sleep. World Sleep 2025, Sept 9 2025 シンガポール

⑤吉田さちね　船戸弘正. 体性感覚刺激で起こるヒト幼児および仔マウスの自発運動量の低下. 第48回日本神経科学大会　新潟

⑥船戸弘正. 解明される睡眠制御の仕組み. 第31回日本脳神経モニタリング学会　羽田

(3)出版物

なし